



RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'INDUSTRIE

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

COPIE OFFICIELLE

RECEIVED

68 SEP - 7 AM 8:38

GROUP 160

LE DOCUMENT CI-ANNEXÉ EST LA COPIE CERTIFIÉE CONFORME,
D'UNE DEMANDE DE TITRE DE PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
ENREGISTRÉE A L'INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ
INDUSTRIELLE

PIUBLIE

LE TITRE A ÉTÉ [REDACTED] LE.....

5 Août 1983

ÉTABLIE A PARIS, LE..... 23 MARS 1983

*Pour le Chef de Service
Directeur de l'Institut national
de la propriété industrielle*

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Y. CAMPENON".

Y. CAMPENON

BA 854 / 060481

DEMANDE DE
(voir case cochée)

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

TRANSFORMATION D'UNE DEMANDE DE BREVET EUROPÉEN.

CERTIFICAT D'ADDITION

DEMANDE DIVISIONNAIRE

CODE POSTAL DU LIEU DE DÉPÔT

DÉPÔT PARIS 39

DUPLICATA DE LA REQUETE

RATTACHEMENT DE LA DEMANDE DIVISIONNAIRE OU DE LA TRANSFORMATION
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE

NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

CABINET PLASSERAUD,
84, rue d'Amsterdam,
75009 - PARIS -DATE DE
REMISE
DES PIÈCES
1 FEV 1982DATE DE
DÉPÔT
01-02-82N° D'ENREGISTREMENT
NATIONAL
82 01575

ChP. MTB-0014-82-01

DATE DU POUVOIR GÉNÉRAL ET NUMÉRO
DE TÉLÉPHONE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE:

280-67-77

1) TITRE DE L'INVENTION

"Nouveaux dérivés d'osides et leur préparation"

NOMBRE DE
REVENDICATIONS:

2) DEMANDEUR: NOM ET PRÉNOMS OU DÉNOMINATION ET FORME JURIDIQUE:

N° SIRENE, LE CAS ÉCHEANT

2

CHOAY s.a.

3) NATIONALITÉ: française

4) ADRESSE COMPLÈTE:

48, avenue Théophile Gautier,
75782 - PARIS CEDEX 16

PAYS

5) INVENTEUR

LE DEMANDEUR EST
L'INVENTEUR

NON

6) LE DEMANDEUR REQUIERT QUE
L'ÉTABLISSEMENT DE L'AVIS
DOCUMENTAIRE SOIT DIFFÉRE

OUI

LE DEMANDEUR REQUIERT LE
BÉNÉFICE DU PAIEMENT ÉCHELONNÉ
DE LA TAXE D'AVIS DOCUMENTAIRE

NON

LE DEMANDEUR BÉNÉFICIE
POUR L'INVENTION CONCERNÉE, D'UNE DÉCISION NON
DE RÉDUCTION DES TAUX DE TAXE7) DECLARATION D'PRIORITÉ
PAYS D'ORIGINE

DATE DE DÉPÔT

NOMBRE

Demande de Certificat d'Utilité résultant de la transformation
de la demande de Brevet déposée le 01/02/82
(Article 20 de la Loi du 2 Janvier 1968 modifiée et articles 62 et
du Décret du 19 Septembre 1979)

8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION:

NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE:

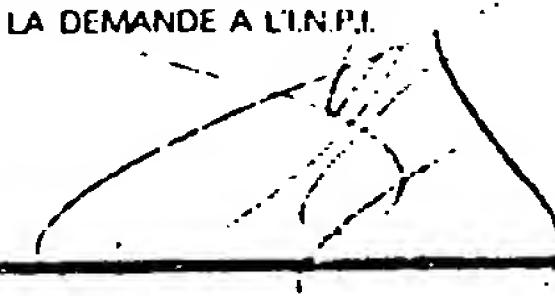
ADDITIONS ANTERIEURES : 1^{er} N°

N°

DATE DE DÉPÔT:

2nd N°3rd N°4th N°SIGNATURE
DU DEMANDEUR
OU
DE SON
MANDATAIRE

SIGNATURE DU PRÉPOSE À LA RECEPTION

SIGNATURE APRÈS ENRÉGISTREMENT
DE LA DEMANDE À L'INPI.

C07H 15/04, 15/18

2 520 744

INSTITUT NATIONAL

DE LA PROPRIETE INDUSTRIELLE

PAGE DE GARDE

B DATE DE DÉPÔT 82 01575
 C DATE DE DÉPÔT 1 FEVRIER 1982
 T DATE DE DÉLIVRANCE 31 DU 05/08/83
 DATI REM DES
 C07H 15/04, 15/18 ; CLASST 3

N° NAT CERTIFICAT D'UTILITÉ

82

CODE POSTAL DU LIEU DE DÉPÔT

DÉPÔT POSTAL - 99

RATTACHEMENT DE LA DEMANDE D'INVENTION OU DE LA TRANSFORMATION
NATURE, N° ET DATE DE LA DEMANDE INITIALE:

NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE

CABINET PLASSERAUD,
84, rue d'Amsterdam,
75009 - PARIS -

ChP-MTB-0014-82-01

280-67-27

1) TITRE DE L'INVENTION (54)

"Nouveaux dérivés d'osides et leur préparation"

2) DEMANDEUR: NOM ET PRÉNOMS OU DÉNOMINATION ET FORME JURIDIQUE: (71)

2

N° SIREN, LE CAS ÉCHEANT

CHOAY s.a.

française

4) ADRESSE COMPLÈTE:

48, avenue Théophile Gautier,
75782 PARIS CEDEX 16

PAYS

5) INVENTEUR (72)

LE DEMANDEUR EST
L'INVENTEUR :

NON

Nbre

P. de G. (Req)

P. de G. (Pub)

NON

7) DECLARATION DE PRIORITE (30)



DATE DE DÉPÔT (32)

NUMÉRO (33)

Des et Rev

Avis Doc

Pl. de Dossin

D. Inventeurs

Abrogé

TOTAL

20

8) RATTACHEMENT DU CERTIFICAT D'ADDITION:

NATURE DE LA DEMANDE PRINCIPALE:

ADDITIONS ANTERIEURES : 1^{er} N°

N°

DATE DE DÉPÔT:

2nd N°3rd N°4th N°

Demande de Certificat d'Utilité résultant de la transformation
 de la demande de Brevet déposée le 01/02/82
 (Article 20 de la Loi du 2 Janvier 1968 modifiée et articles 42 et 43
 du Décret du 19 Septembre 1979)

INSTITUT NATIONAL DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

DIVISION ADMINISTRATIVE DES BREVETS

DÉSIGNATION DE L'INVENTEUR

(si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)
CHP.MTB - 14-82-01

N° d'enregistrement national

82 01 545

Titre de l'invention :

"Nouveaux dérivés d'osides et leur préparation"

XXXXXXXXXXXXXX

La Demanderesse CHOAY s.a. représentée
par son mandataire le CABINET PLASSERAUD,
84, rue d'Amsterdam,
75009 - PARIS -

désigne (nt) en tant qu'inventeur (s) (nom, prénoms, adresse)

Jean CHOAY,
21, rue Saint Guillaume,
75007 - PARIS -

Jean-Claude JACQUINET,
1, allée André Gide,
45100 - ORLEANS - LA SOURCE -

Maurice PETITOU,
27, rue du Javelot,
Appt. 201,
75645 - PARIS CEDEX 13 -

Pierre SINAY,
5, rue Jacques Monod,
45100 - ORLEANS -



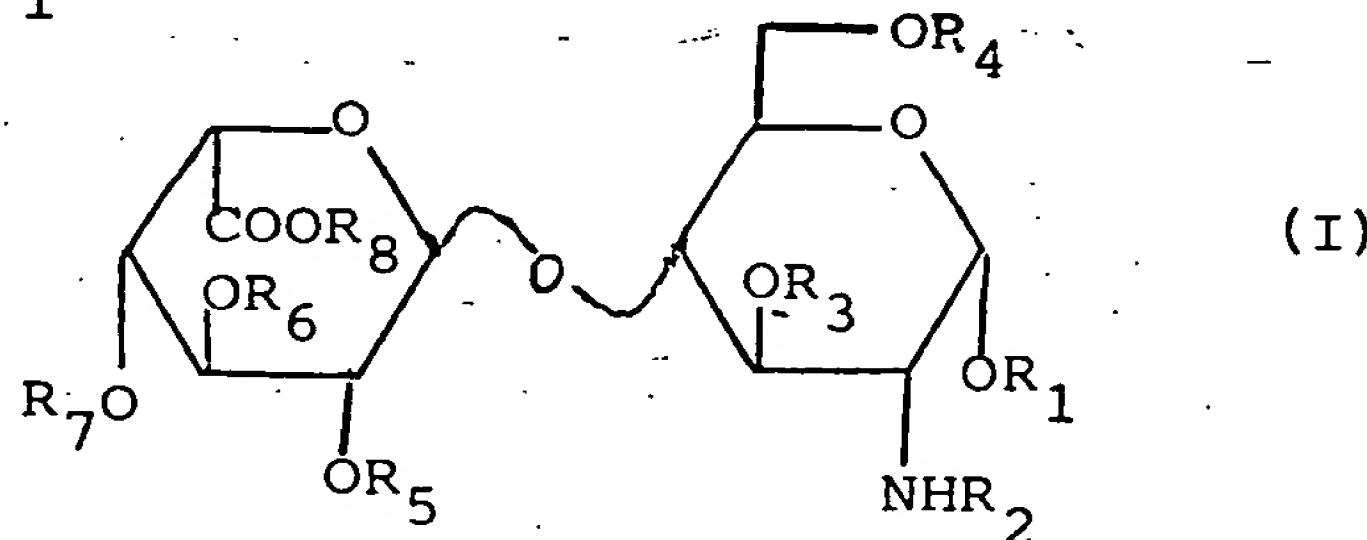
Date et
signature (s) du (des) demandeur (s) ou du mandataire

Choay -

"Nouveaux dérivés d'osides et leur préparation"

L'invention a pour objet de nouveaux dérivés d'osides et leur préparation.

Ces nouveaux osides sont constitués par des disaccharides $\alpha\rightarrow 1,4$ formés de deux motifs respectivement à structure acide L-iduronique et D-glucosamine, de formule I



dans laquelle :

- 10 - R_1 à R_7 représentent des groupements protecteurs, le cas échéant différents, compatibles ;
 - R_1 représentant plus particulièrement un groupe benzyle, ou encore un groupe alcoyle plus spécialement $-CH_3$;
 - R_2 un groupe benzyloxycarbonyle ;
 - R_3 un groupe benzyle ou un atome d'hydrogène ;
 - R_4 un groupe acétyle, un atome d'hydrogène ou encore un groupe benzoyle ;
 - R_5 un groupe acétyle ;
 - R_6 un groupe benzyle ;
 - R_7 un groupe acétyle, monochloroacétyle ou de l'hydrogène, et
 - R_8 représente un groupe alcoyle, en particulier, méthyle.
- 15
- 20

L'invention vise plus particulièrement les disaccharides de formule I dans lesquels :

- R_1 , R_3 et R_6 représentent un groupe benzyle,
- R_4 et R_5 , un groupe acétyle.

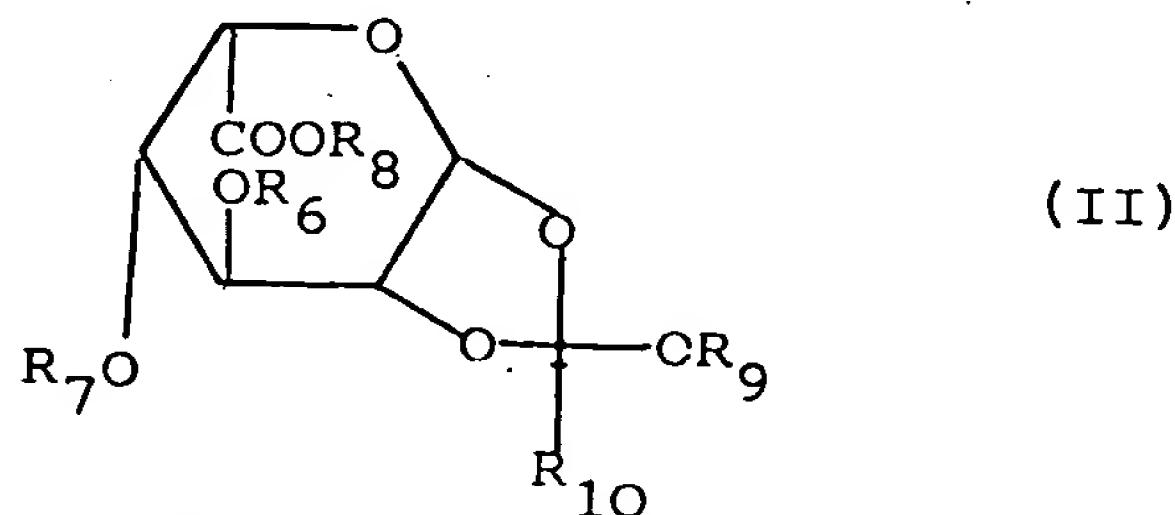
Dans des disaccharides préférés de ce type, R_7 représente un groupe monochloroacétyle.

30 Dans d'autres disaccharides préférés de ce type, R_7 , représente un atome d'hydrogène. On notera que de tels disaccharides sont des produits semi-ouverts, c'est-à-dire susceptibles d'être couplés avec un autre composé, en particulier un autre oside par l'intermédiaire du groupe $-OR_7$.

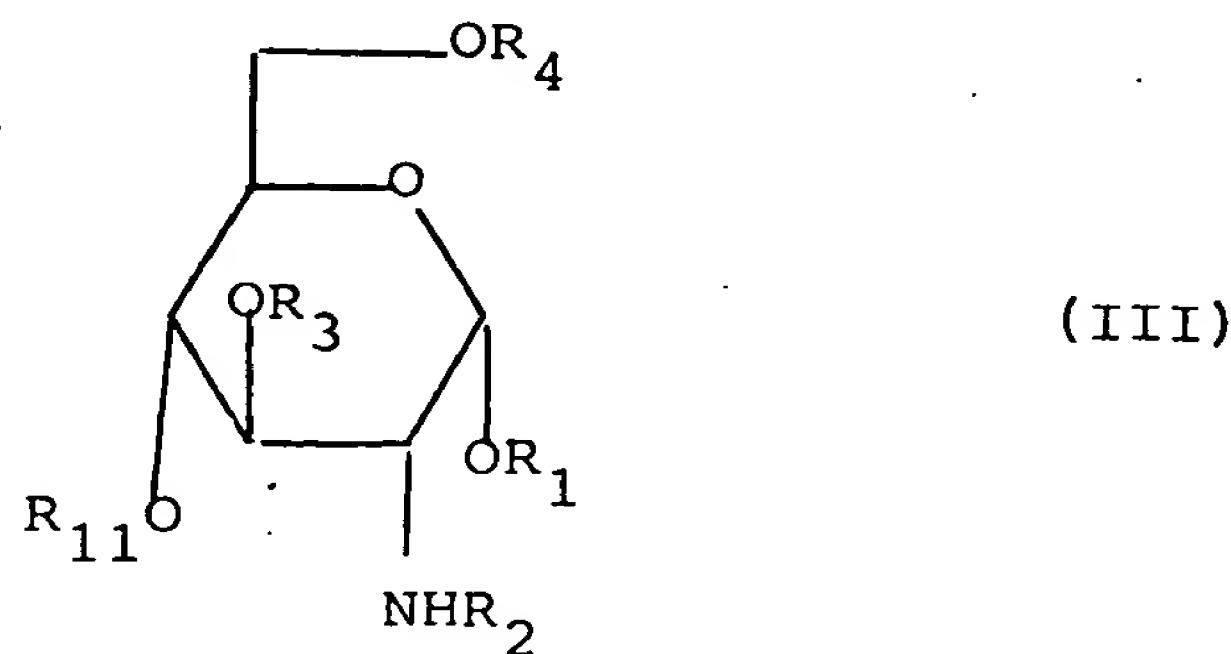


L'invention vise également un procédé de préparation de ces disaccharides.

Ce procédé comprend la réaction, dans des conditions permettant leur couplage, d'un monosaccharide à structure acide L-iduronique, de formule II



5 avec un monosaccharide à structure D-glucosamine, de formule III :



Dans ces formules :

- R₁ à R₄ et R₆ à R₈ présentent les significations données ci-dessus,
- R₉ représente un groupe alcoyle, en particulier, méthyle ou tertio-butyle
- R₁₀ un groupe alcoyle, en particulier méthyle et
- R₁₁ un atome d'hydrogène, R₁₁ et R₄ pouvant former ensemble un groupe benzylidène.

Le monosaccharide III, à structure D-glucosamine est un oside dont les différents groupes -OH sont sélectivement protégés.

20 Le monosaccharide II à structure acide L-iduronique correspond avantageusement à un motif ouvert, c'est-à-dire permettant, par la nature de ses groupements en positions 1 et 4 l'établissement de liaisons avec d'autres composés, en particulier d'autres osides.

Pour l'élaboration d'un tel motif ouvert, on prépare un dérivé convenablement protégé de l'acide 25 L-iduronique substitué sur les positions 1, 2, 3 et 4



par des groupements protecteurs différents et compatibles.

L'utilisation de ce motif pour la synthèse d'oligosaccharides comportant des motifs constitutifs des chaînes d'héparine impose la présence en C-2 (c'est-à-dire sur le carbone en position 2) d'un groupement acétyle (position qui sera sulfatée) et en C-3 d'un groupement benzyle (position qui sera hydroxylée).

De plus, le substituant en C-4 doit pouvoir être éliminé sélectivement (afin de libérer l'hydroxyle qui sera ultérieurement glycosylé) et le carbone anomère doit être activé en vue de la glycosylation avec l'hydroxyle en C-4 du monosaccharide de formule III.

L'orthoester répondant à la formule II ci-dessus dans laquelle R_9 représente un groupe tertio-butyle, R_{10} un groupe méthyle, R_6 un groupe benzyle, R_7 un groupe monochloroacétyle et R_8 un groupe méthyle est tout spécialement préféré à cet égard.

Cet orthoester peut être obtenu à partir d'un triol cristallin 7 dont la per-O-acétylation permet de figer majoritairement la conformation sous forme pyrannique. Le blocage des C-1 et C-2 par une fonction orthoester (tert-butoxyéthylidène de préférence) permet d'obtenir une forme activée, qui, après glycosylation va conduire à un glycoside 2-O-acétylé. L'échange du groupement acétate en C-4 contre un groupement chloroacétate (que l'on peut enlever sélectivement) est ensuite réalisé via l'alcool 13. La glycosylation des alcools 4 et 6 par l'orthoester 14 conduit exclusivement aux disaccharides $\alpha 1 \rightarrow 4$. La O-déchloroacétylation sélective de 20 conduit au dérivé semi-ouvert 21, spécialement avantageux pour les synthèses osidiques envisagées.



L'invention vise également en tant que produits nouveaux les divers oligosaccharides obtenus au cours du procédé de l'invention.

Les composés de l'invention présentent notamment 5 un grand intérêt en tant qu'intermédiaires en synthèse osidique, plus spécialement pour la synthèse d'oligo-saccharides constitutifs de l'héparine ou de l'héparan sulfate.

Ils permettent ainsi d'obtenir par voie de synthèse 10 des oligosaccharides à activité anti-Xa (Yin-Wessler) supérieure à celle de l'héparine et à activité USP, pratiquement négligeable. Les tests Yin-Wessler et USP sont rappelés notamment dans la demande de brevet FR 78 31357 du 6 novembre 1978 au nom 15 de la Demanderesse.

Les principales étapes et les produits intermédiaires obtenus, qui font donc également partie de 20 l'invention - sont illustrés dans les figures 1 à 6. Les formules chimiques des composés de départ, des composés intermédiaires successivement obtenus et des composés finaux, données dans ces figures portent 25 des références numériques, également utilisées pour désigner les mêmes produits dans la description.

Les abréviations utilisées dans ces formules ont les significations suivantes : Ac : groupe acétyle ; Me : méthyle ; B : benzyle ; Bz : benzoyle ; MAC : monochloroacétyle ; Ph-CH : benzylidène et t-Bu : tertiobutyle.



EXEMPLE 1 : Préparation des composés 2, 3, 4 et 6 à structure D-glucosamine.

Composé 2 : Méthyl 3-O-benzyl-4,6-O-benzylidène-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy- α -D-glucopyranoside.

Une solution de composé 1* (415 mg, 1mM,) dans le N,N-diméthylformamide anhydre (10 ml) est agitée à la température ambiante à l'abri de l'humidité pendant 5 h en présence de baryte anhydre (613 mg), d'hydroxyde de barium octahydraté (158 mg) et de bromure de benzyle (0,15 ml). Le mélange réactionnel est alors dilué avec du chloroforme (50 ml), la phase organique est lavée avec de l'acide acétique à 50% glacé, avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. Le résidu solide est recristallisé dans l'éthanol pour donner 2, (461 mg, 91%); P.F : 202-203°C; $[\alpha]_D = +46^\circ$ ($c: 1$, chloroforme).

*(préparé selon ZU YONG KYI, Sci. Sinica (Peking), 5 (1956) 461-467, CA 52 (1958) 3694.)

Composé 3 : Méthyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy- α -D-glucopyranoside.

Une suspension du composé 2 (300 mg) dans de l'acide acétique à 60% (10 ml) est agitée à 100°C pendant 30 mn. La solution est alors refroidie, évaporée à sec, évaporée avec de l'eau (4x10 ml), le résidu solide est séché sous vide et recristallisé dans le 2-propanol pour donner 3 (220 mg, 89%), P.F : 151-152°C, $[\alpha]_D = +94^\circ$ ($c : 1$, méthanol)

Composé 4 : Méthyl 6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy- α -D-glucopyranoside.

Une solution du composé 3 (835 mg, 2mM) dans un mélange de pyridine anhydre (5ml) et de dichlorométhane (12ml) est agitée à la température ambiante à l'abri de l'humidité en présence de cyanure de benzoyle (400mg, 3mM) pendant 5 h. L'excès de réactif est alors détruit par addition de méthanol (5ml) et agitation pendant 30 mn. Le mélange réactionnel est évaporé à sec, évaporé avec du toluène et séché sous vide. Le résidu solide est recristallisé dans un mélange acétate d'éthyle-hexane pour donner 4 (935 mg, 90%) P.F. : 154-155°C, $[\alpha]_D = + 74^\circ$ ($c : 1$, chloroforme).

Composé 6 : Benzyl 6-O-acétyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy- α -D-glucopyranoside.



Une suspension du composé 5 (987mg, 2mM, ce composé est préparé selon P.C. WYSS and J. KISS, *Helv. Chim. Acta*, 58 (1975) 1833-1847) dans le 1,2-dichloréthane anhydre (15ml) est agitée à reflux pendant 30 h en présence de N-acétyl-imidazole (2,5mM, fraîchement préparé). Après 5 refroidissement et dilution avec du chloroforme (50 ml), la phase organique est lavée avec une solution glacée d'acide chlorhydrique M, avec de l'eau, avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. 10 Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (50 g). L'élution par le mélange dichlorométhane : acétone (15 : 1, v/v) donne 6 sous forme d'un sirop cristallisant dans un mélange acétate d'éthyle-hexane (759 mg, 71%), P.F. : 114-115°C; $[\alpha]_D^{25} = +88^\circ$ (c : 1, chloroformé).

EXEMPLE 2 : Préparation des composés 8 et 9, 10, 11, 12, 13 et 14, à structure acide L-iduronique.

Composés 8 et 9 : 1,2,4-tri-O-acétyl-3-O-benzyl- α ; β -L-méthyl idopyranuronate

Une solution du composé 7 (3g, préparé selon demande de brevet FR No 82 00621, au nom de la Demandante) dans un mélange de pyridine anhydre (20 ml) et d'anhydride acétique (10 ml) est agitée à 0°C, à l'abri de l'humidité, pendant 5 h. Le mélange réactionnel est évaporé à sec, évaporé avec du toluène (4x20ml), et séché sous vide. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (150g). L'élution par le mélange toluène : acétate d'éthyle (4 : 1 v/v) donne, par ordre d'élution :

- une fraction de tête composée de dérivés furanniques,
- le composé 8, (anomère α), sirop, (170mg, 4%),

$[\alpha]_D^{25} = -43^\circ$; (c : 1, chloroforme), R.M.N. ($CDCl_3$) : δ : 6,23 (s, 1H, H-1).

- le composé 9, (anomère β), cristallisant dans un mélange éther-hexane, (2,688 g, 63%), P.F. : 112-113°C, $[\alpha]_D^{25} = +9^\circ$ (c : 1, chloroforme) R.M.N. ($CDCl_3$) : δ : 6,08 (d, 1H, H-1, $J_{1,2} : 1,5$ Hz).



Les anomères α et β 8 et 9 ne sont pas séparés lorsqu'on procède à la succession des synthèses décrites.

Leur mélange est utilisé directement sous forme de sirop pour les réactions ultérieures.

5 Composé 10 : Bromure de 2,4-di-O-acétyl-3-O-benzyl- α -L-méthyl idopyranuronyle.

Un mélange d'acétates 8 et 9 (212 mg, 0,5mM) est dissous dans du dichlorométhane anhydre (5ml) et de l'acétate d'éthyle anhydre (0,5ml). Du tétrabromure de titane (250 mg, 0,7mM) est ajouté en une seule fois, et le mélange réactionnel est agité 24 h à la température ambiante à l'abri de l'humidité. Après refroidissement à 0°C et dilution avec du dichlorométhane, la phase organique est lavée avec de l'eau glacée (3 fois), séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée pour donner 10 sous forme d'un sirop légèrement coloré (217 mg, 96%), R.M.N. (CDCl_3) : δ : 6,41 (s, 1H, H-1). Ce composé, très instable est immédiatement engagé dans les réactions suivantes.

20 Composé 11 : 4-O-acétyl-3-O-benzyl-1,2-O-méthoxyéthyldène- β -L-méthyl idopyranuronate

Une solution du bromure 10 (fraîchement préparé à partir de 0,425 g, 1mM, de mélange d'acétates 8 et 9) dans du dichlorométhane anhydre (10ml) est agitée à la température ambiante sous atmosphère d'argon sec. De la sym-collidine (0,66ml, 5 mM) et du méthanol anhydre (0,40ml, 10mM) sont successivement ajoutés, et le mélange réactionnel est agité 20 h dans ces conditions. Après dilution avec du dichlorométhane (50ml), la phase organique est lavée avec une solution saturée aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (20g). L'élution par le mélange hexane : acétate d'éthyle (3:2 v/v, contenant 0,5% de triéthylamine) donne 11 sous forme d'un sirop pur (302mg, 76% à partir de 8 et 9), $[\alpha]_D = -21^\circ$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. (CDCl_3) : δ : 5,52 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$: 3Hz).



30

35

Composé 12 : 4-O-acétyl-3-O-benzyl-1,2-O-tert-butoxyéthylidène- β -L-méthyl idopyranuronate.

Une solution de bromure 10 (fraîchement préparé à partir de 2,122 g, 5mM, de mélange d'acétates 8 et 9) dans du dichlorométhane anhydre (20ml) est agitée à la température ambiante sous atmosphère d'argon sec. De la sym-collidine (2,65 ml, 20mM) et du tert-butanol anhydre (3ml, 30mM) sont successivement ajoutés, et le mélange réactionnel est agité 15 h dans ces conditions. Après traitement identique à celui décrit pour le composé 11, le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (120g). L'élution par le mélange hexane:acétate d'éthyle (2:1, v/v, contenant 0,5% de triéthylamine) donne 12 sous forme d'un sirop pur (1,542g, 70% à partir de 8 et 9), $[\alpha]_D = -23^\circ$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. ($CDCl_3$) : δ : 5,48 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$: 2,5 Hz).

Composé 13 : 3-O-benzyl-1,2-O-tert-butoxyéthylidène- β -L-méthyl idopyranuronate.

Une solution de l'orthoester 12 (484mg, 1,1mM) dans le méthanol anhydre (15ml) est refroidie à $-20^\circ C$ sous agitation et atmosphère d'argon sec. Du carbonate de potassium anhydre (60 mg) est ajouté, et le mélange réactionnel est agité 5h dans ces conditions. Les solides sont essorés, le filtrat est évaporé et le résidu est repris dans du chloroforme (50ml). La phase organique est lavée avec de l'eau glacée (3 fois) séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. Le résidu est chromatographié rapidement sur une colonne de gel de silice (25g). L'élution par le mélange hexane :acétate d'éthyle (2:1, v/v, contenant 0,5% de triéthylamine), donne, par ordre d'élution :

25 - le composé insaturé 15 (31mg, 7%) sirop, $[\alpha]_D = +103^\circ$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. ($CDCl_3$) : δ : 6,27 (d, ded., 1H, H-4, $J_{3,4}$: 5Hz, $J_{2,4}$: 1Hz), 5,67 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$: 4 Hz).
30 - une fraction principale (271mg, 62%), qui est cristallisée dans un mélange éther-hexane pour donner 13 (123mg, 28%), P.F. : 68-69°C ; $[\alpha]_D = -19^\circ$ (c : 1, chloroforme),



R.M.N. (CDCl_3) : δ : 5,41 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$: 2Hz), 2,85 (d, 1H, CH-4, J : 12Hz, échangé avec D_2O).

Au cours de la chromatographie sur silice, et lors des essais de cristallisation de 13, un composé nouveau de Rf légèrement supérieur à celui de 13 apparaît. Une chromatographie sur gel de silice des eaux-mères de cristallisation de 13 permet d'isoler quelques fractions pures de ce nouveau composé 16 (41 mg, 11%), sirop, $[\alpha]_D = +21^\circ$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. (CDCl_3) : δ : 5,83 (d, 1H, H-1, $J_{1,2}$: 4,5Hz).

Dans le cadre de la succession des synthèses envisagées selon l'invention, afin d'éviter la formation de 16, le sirop brut de 12 n'est pas chromatographié, mais utilisé immédiatement pour la réaction suivante.

Composé 14 : 3-O-benzyl-4-O-chloroacétyl-1,2-O-tert-butoxyéthylidène- β -L-méthyl idopyranuronate. (à partir de 12).

Une solution de l'orthoester 12 (220mg, 0,5mM) dans le méthanol anhydre (10ml) est refroidie à -20°C sous agitation et atmosphère d'argon sec. Du carbonate de potassium anhydre (40mg) est ajouté et le mélange réactionnel est agité pendant 5 h dans ces conditions. Les solides sont essorés, le filtrat est évaporé et le résidu est repris dans du chloroforme (50ml). La phase organique est lavée rapidement avec de l'eau glacée (3 fois), séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. Le résidu est immédiatement dissous dans de la pyridine anhydre (4ml) et du dichlorométhane anhydre (2ml). Après refroidissement à -20°C sous atmosphère d'argon sec, une solution de chlorure de chloroacétyle (0,1ml, 1,25mM, fraîchement distillé) dans le dichlorométhane anhydre (1ml) est ajoutée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité dans ces conditions pendant 30 mn, puis versé dans un mélange eau-glace (100ml). Après agitation pendant 15 mn, le mélange est extrait avec du chloroforme (3x20ml). Les phases organiques sont lavées avec de l'eau glacée, avec une solution aqueuse à 2% d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau,



séchées (sulfate de sodium), filtrées et évaporées. Le résidu est chromatographié rapidement sur une colonne de gel de silice (12g). L'élution par le mélange hexane:acétate d'éthyle (5:2, v/v, contenant 0,2% de triéthylamine) donne, par ordre d'élution :

- le composé insaturé 15 (15mg, 8%),
- l'orthoester 14 sirop (145mg, 61% à partir de 12),
 $\Delta\alpha_D^{25} = +19^\circ$ ($\underline{\text{c}}$: 1, chloroforme), R.M.N. (CDCl_3) : δ : 5,45
 $(\text{d}, 1\text{H}, \text{H-1}, J_{1,2} : 2,5\text{Hz})$, 5,24 (d. de d., 1H, H-4,
10 $J_{3,4} : 2,5\text{Hz}$, $J_{4,5} : 1,5\text{Hz}$), 4,00 (s, 2H, $\text{Cl}-\underline{\text{CH}_2}-\text{COO}-$).

EXEMPLE 3 : Préparation des disaccharides 17, 18 et 19.

Composé 17 : Méthyl 6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-benzylloxycarbonylamino-2-désoxy-4-O-(2,4-di-O-acétyl-3-O-benzyl- α -L-méthyl idopyranuronyl)- α -D-glucopyranoside.

Une solution de l'orthoester 11 (80mg, 0,2mM) et de l'alcool 4 (52mg, 0,1mM) dans du chlorobenzène anhydre (8ml) est chauffée à 140°C sous agitation et léger courant d'argon sec. Après distillation lente de 6ml de solvant, une 20 solution de perchlorate de 2,6 diméthylpyridinium (0,002mM fraîchement préparé selon N.K. KOCHETKOV, A.F. BOCHKOV, T.A. SOKOLOVSKAIA et V.J. SNTATKOVA, Carbonhydr. Res., 16 (1971) 17-27, dans le chlorobenzène (2ml) est ajoutée goutte à goutte en 15 mn. avec distillation simultanée de solvant (2 ml). Le mélange réactionnel est alors agité pendant 1 h, dans ces conditions, avec addition de solvant frais (10ml) et distillation simultanée de telle sorte que le volume réactionnel reste constant et égal à 2 ml. Après refroidissement et dilution avec du chloroforme, la phase 30 organique est lavée avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (15g). L'élution par le mélange hexane : acétate d'éthyle (4:3, v/v) donne, par ordre 35 d'élution :

- le produit de départ 4, (20mg, 38%),
- une fraction homogène en chromatographie sur couche



mince (54mg). Le spectre de R.M.N. de cette fraction montre la présence de plusieurs signaux $\underline{\text{O}}$ -méthyl (δ : 3,35-3,50) dus aux méthyl glycosides provenant du réarrangement de l'orthoester 11. Cette fraction est cristallisée dans un mélange éthanol-eau, et recristallisée dans un mélange acétate d'éthyle-hexane pour donner 17 (44 mg, 50%), P.F. : 120-121°C, $[\alpha]_D = +17^\circ$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. (CDCl_3) : conforme à la structure attendue.

Composé 18 : Méthyl 6-O-benzoyl-3-O-benzyl-2-benzyloxycarbonylamino-2-désoxy-4-O-(2-O-acétyl-3-O-benzyl-4-O-chloroacétyl- α -L-méthyl idopyranuronyl)- α -D-glucopyranoside.

Une solution de l'orthoester 14 (120mg, 0,25mM) et de l'alcool 4 (66mg, 0,125mM) dans du chlorobenzène anhydre (8ml) est chauffée à 140°C sous agitation et léger courant d'argon sec. Après distillation lente de 6ml de solvant, une solution de perchlorate de 2,6-diméthylpyridinium (0,0025mM) dans du chlorobenzène est ajoutée goutte à goutte en 15mn, avec distillation simultanée de solvant (2ml). Le mélange réactionnel est agité pendant 1 h puis traité dans les conditions décrites pour la préparation de 17. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (15g). L'élution par le mélange hexane :acétate d'éthyle (7 : 4, v/v) donne, par ordre d'élution :

- le produit de départ 4, (40 mg, 60%),
- le disaccharide 18, cristallisé dans un mélange éther-hexane, (36 mg, 30%), PF : 143-144°C, $[\alpha]_D = +$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. (CDCl_3) : conforme à la structure attendue.

Composé 19 : O-déchloroacétylation et acétylation du disaccharide 18.

Un mélange du disaccharide 18 (12mg) et de thiourée (5mg) dans de la pyridine (1,2ml) et de l'éthanol absolu (0,3ml) est agité à 100°C pendant 30 mn. Après refroidissement, le mélange réactionnel est évaporé à sec et le résidu est repris par un mélange eau-chloroforme (1:1, v/v, 20 ml). La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. Le résidu est lavé sur une colonne de gel de silice (1g).



L'élution par le mélange acétate d'éthyle : hexane (1 : 1, v/v) donne le disaccharide 19 (8mg) sous forme d'un sirop pur qui n'a pas été analysé, mais immédiatement acétylé (pyridine : anhydride acétique, 2 : 1, v/v, 1,5ml). Après 15 h à la température ambiante, le mélange réactionnel est évaporé à sec et le résidu est appliqué sur une colonne de gel de silice (0,5g).
 5 L'élution par le mélange acétate d'éthyle : hexane (1 : 1, v/v) donne le disaccharide 17 (7mg), cristallisé dans un mélange éther-hexane, PF : 120-120,5°C, P.F. de mélange avec 17 : 120-121°C.

10 EXEMPLE 4 : Préparation des disaccharides 20 et 21.

15 Composé 20 : Benzyl 6-O-acétyl-3-O-benzyl-2-benzyloxy-carbonylamino-2-désoxy-4-O-(2-O-acétyl-3-O-benzyl-4-O-chloroacétyl- α -L-méthyl idopyranuronyl)- α -D-glucopyranoside.

20 Une solution de l'orthoester 14 (284mg, 0,6mM) et de l'alcool 6 (214mg, 0,4mM) dans du chlorobenzène anhydre (12ml) est chauffée à 140°C sous agitation et léger courant d'argon sec. Après distillation lente de 10ml de solvant, une solution de perchlorate de 2,6-diméthyl-pyridinium (0,006mM, fraîchement préparé) dans du chlorobenzène (4ml) est ajoutée goutte à goutte en 30 mn. avec distillation simultanée de solvant (4ml). Le mélange réactionnel est agité 1 h, puis traité dans les conditions décrites pour la préparation de 17.

25 Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (40g). L'élution par le mélange hexane : acétate d'éthyle (4:3, v/v) donne, par ordre d'élution :

- le produit de départ 6, (120mg, 56%)
- le disaccharide 20, cristallisé dans un mélange éther-hexane (112mg, 30%, PF : 144-145°C, $[\alpha]_D^{25} = +35^\circ$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. ($CDCl_3$) : conforme à la structure attendue.

30 35 Composé 21 : Benzyl 6-O-acétyl-3-O-benzyl-2-benzyloxy-carbonylamino-2-désoxy-4-O-(2-O-acétyl-3-O-benzyl- α -L-méthyl idopyranuronyl)- α -D-glucopyranoside.

Un mélange du disaccharide 20 (56mg, 0,06mM) et de thiourée (7mg, 0,1mM) dans de la pyridine (2,5ml) et

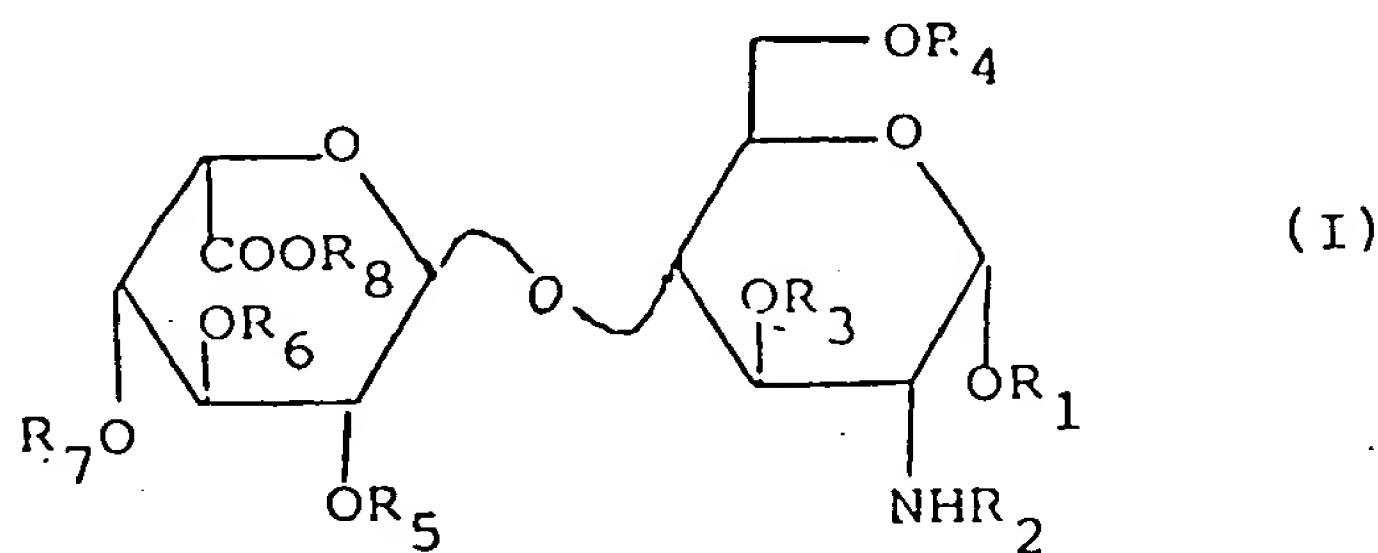


de l'éthanol absolu (0,5ml) est agité à 100°C pendant 30 mn. Après refroidissement et évaporation à sec, le résidu est repris par un mélange eau-chloroforme (1 : 1, v/v 40 ml). La phase organique est lavée avec de l'eau, séchée (sulfate de sodium), filtrée et évaporée. Le résidu est chromatographié sur une colonne de gel de silice (2g). L'élution par le mélange acétate d'éthyle : hexane (2 : 1, v/v) donne le disaccharide 21, cristallisé dans l'éther (46mg, 30%), P.F. : 146-147°C $\alpha_D^{25} = +44^\circ$ (c : 1, chloroforme), R.M.N. ($CDCl_3$) : conforme à la structure attendue.



REVENDICATIONS

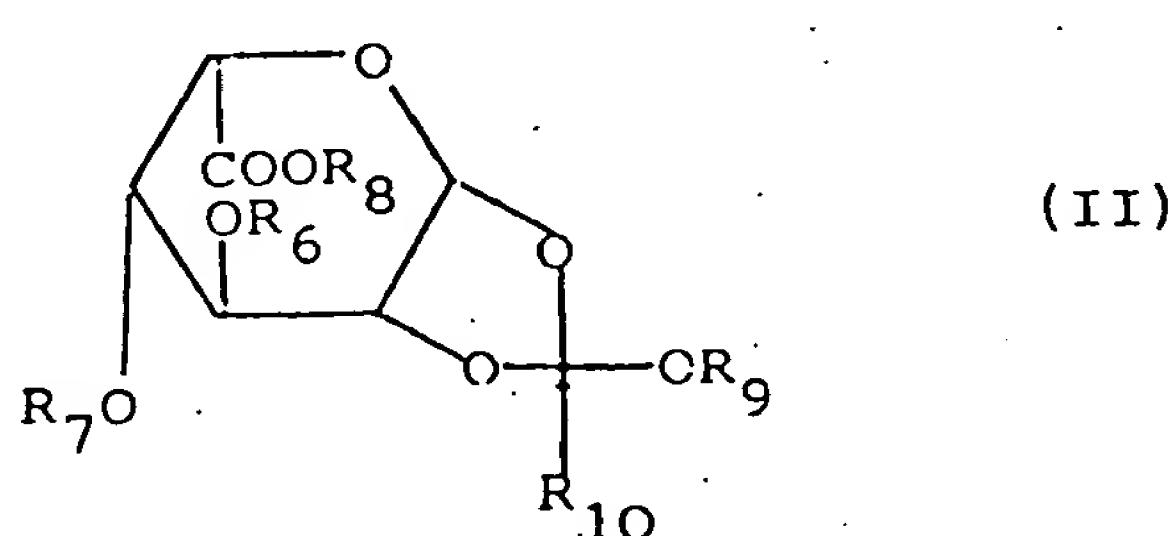
1. Nouveaux dérivés d'osides caractérisés en ce qu'il s'agit de disaccharides $\alpha 1 \rightarrow 4$ formés de deux monosaccharides respectivement à structure acide 5 L-iduronique et D-glucosamine, de formule I :



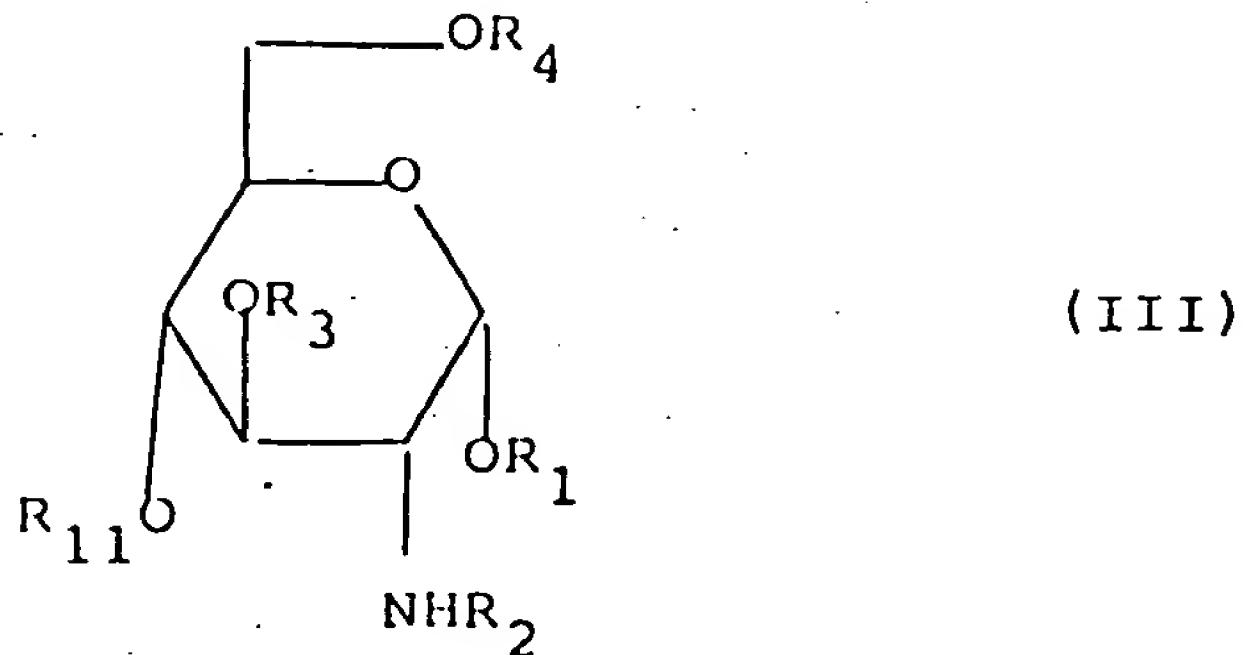
dans laquelle :

- R_1 à R_7 représentent des groupements protecteurs, le cas échéant différents, compatibles ;
- 10 . R_1 représentant plus particulièrement un groupe benzyle, ou encore un groupe alcoyle plus spécialement $-CH_3$;
- . R_2 un groupe benzyloxycarbonyle ;
- . R_3 un groupe benzyle ou un atome d'hydrogène ;
- . R_4 un groupe acétyle, un atome d'hydrogène ou encore un 15 groupe benzoyle ;
- . R_5 un groupe acétyle ;
- . R_6 un groupe benzyle ;
- . R_7 un groupe acétyle, monochloroacétyle ou de l'hydrogène, et
- 20 . R_8 représente un groupe alcoyle, en particulier, méthyle.

2. Procédé de préparation d'osides selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend la réaction, dans des conditions permettant leur couplage, d'un monosaccharide à structure acide L-iduronique, de formule 25 II :



avec un monosaccharide à structure D-glucosamine, de formule III :



dans lesquelles :

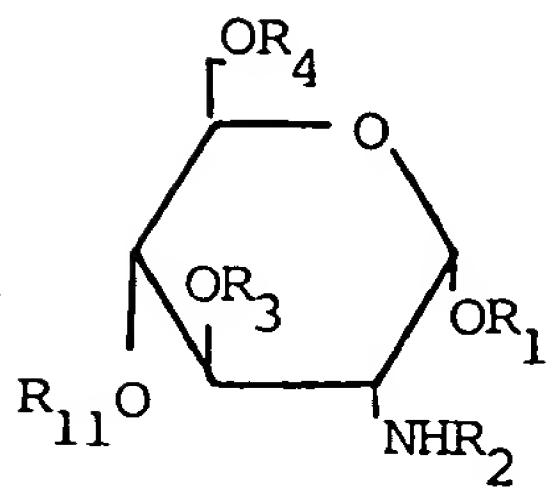
5 - R_1 à R_4 et R_6 à R_8 présentent les significations données ci-dessus,

- R_9 représente un groupe alcoyle, en particulier, méthyle ou tertio-butyle et
- R_{10} un groupe alcoyle, en particulier méthyle et
- R_{11} un atome d'hydrogène, R_{11} et R_4 pouvant former ensemble un groupe benzylidène.



PLANCHE I

Figure 1



avec a) $R_1 = Me$

et $R_3 = H$; R_{11} et $R_4 = Ph - CH$: composé 1

$R_3 = B$; R_{11} et $R_4 = Ph - CH$: composé 2

$R_3 = B$; $R_{11} = R_4 = H$: composé 3

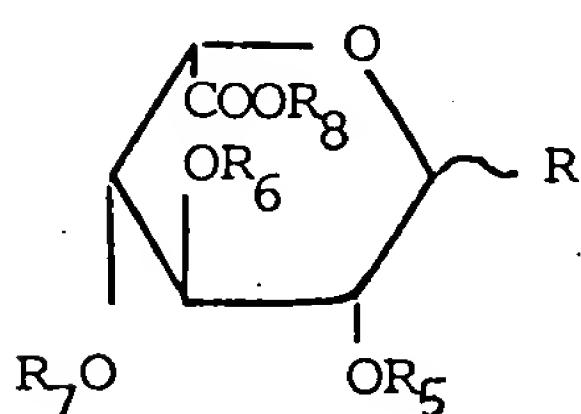
$R_3 = B$; $R_{11} = H$; $R_4 = B_Z$: composé 4

ou b) $R_1 = R_3 = B$

et $R_{11} = R_4 = H$: composé 5

$R_{11} = H$; $R_4 = AC$: composé 6

Figure 2



$R_6 = B$ et $R_8 = Me$

$R = OH$; $R_5 = R_7 = H$: composé 7

$R = OAc(\alpha)$; $R_5 = R_7 = AC$: composé 8

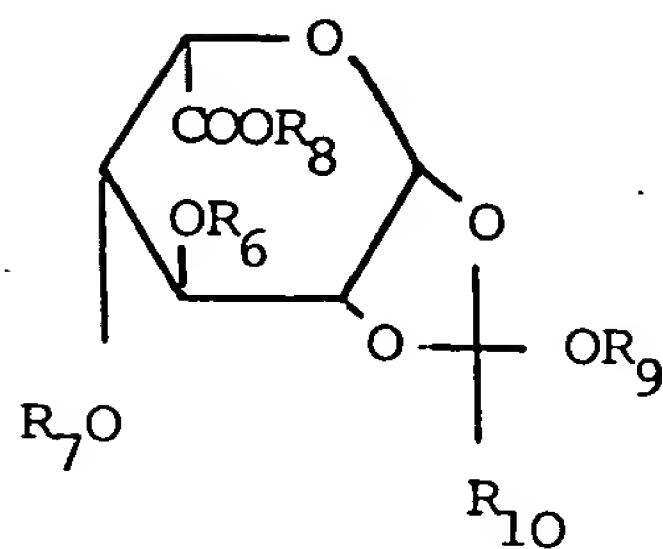
$R = OAc(\beta)$; $R_5 = R_7 = AC$: composé 9

$R = Br(\alpha)$; $R_5 = R_7 = AC$: composé 10



PLANCHE II

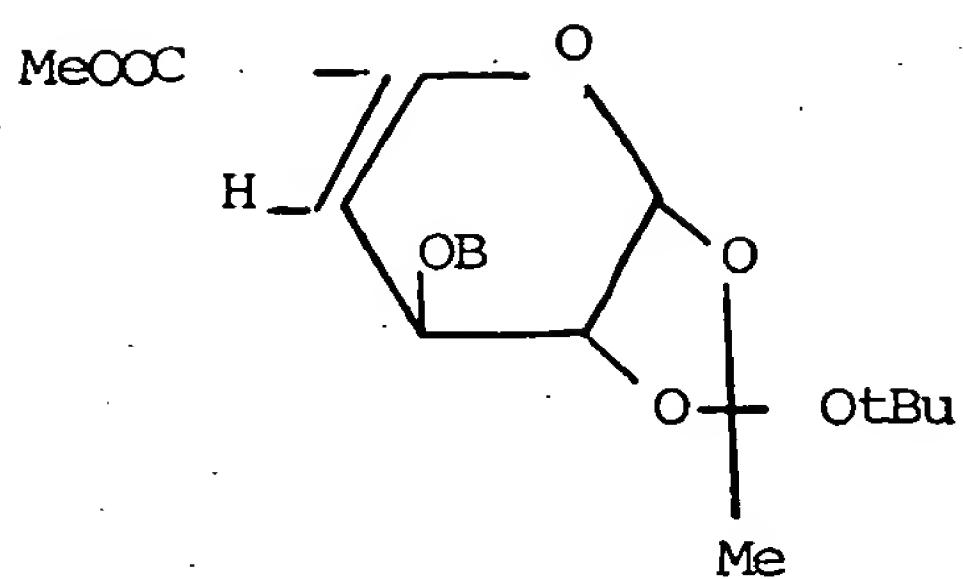
Figure 3



$R_{10} = Me$; $R_6 = B$; $R_8 = Me$

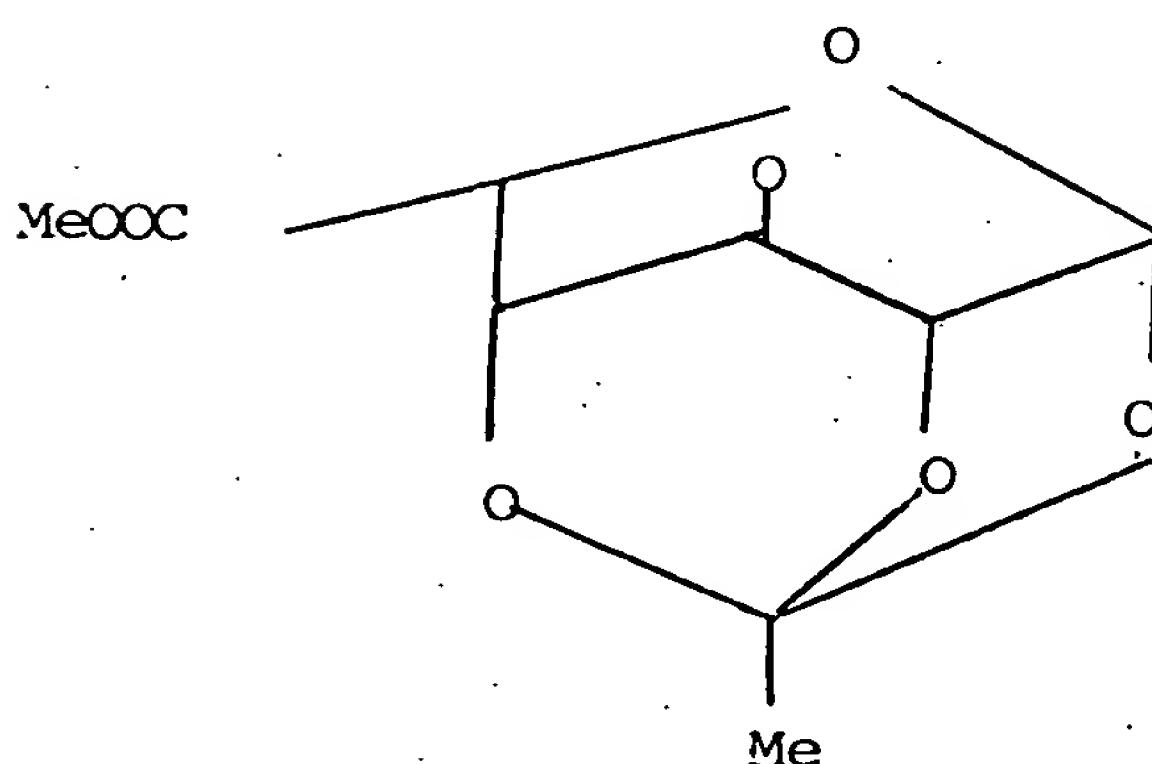
avec $R_9 = Me$; $R_7 = Ac$: composé <u>11</u>
$R_9 = tBu$; $R_7 = Ac$: composé <u>12</u>
$R_9 = tBu$; $R_7 = H$: composé <u>13</u>
$R_9 = tBu$; $R_7 = MCA$: composé <u>14</u>

Figure 4



composé 15

Figure 5

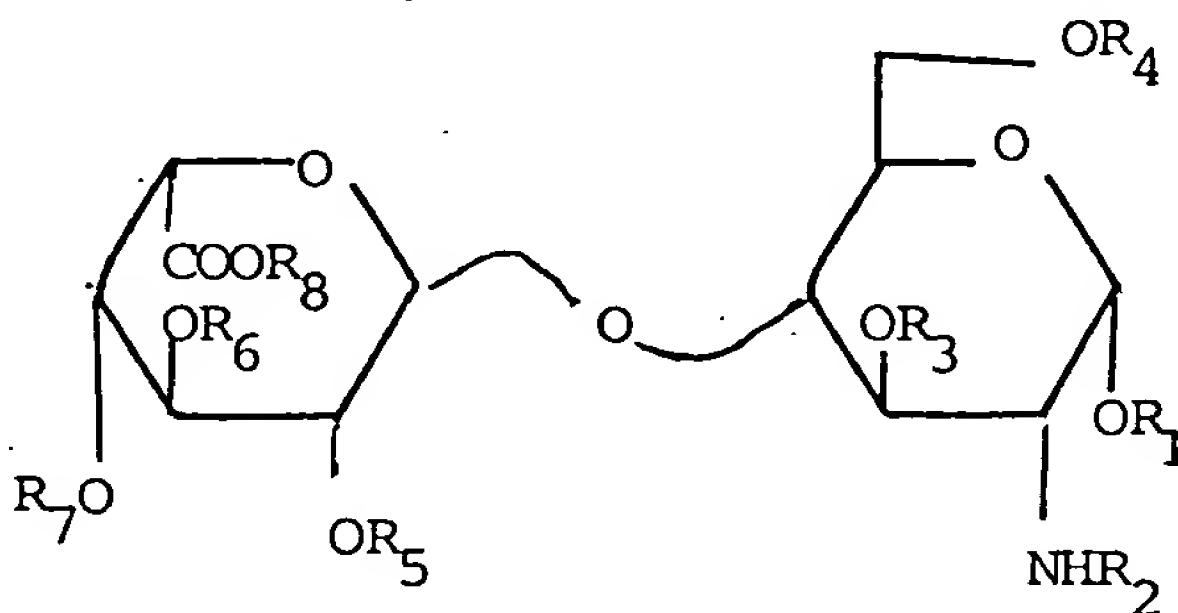


composé 16



PLANCHE III

Figure 6



$R_2 = -CO-OB$; R_3 et $R_6 = B$; $R_5 = Ac$; $R_8 = Me$

avec a) $R_1 = Me$; $R_4 = B_z$

et $R_7 = Ac$: composé 17

$R_7 = MCA$: composé 18

$R_7 = H$: composé 19

ou b) $R_1 = B$; $R_4 = Ac$

avec $R_7 = MCA$: composé 20

$R_7 = H$: composé 21

